

Prefazione

IN natura nessun alimento è sterile, per cui dopo un certo tempo si altera e ciò avviene tanto più in fretta quanto più l'alimento è ricco di acqua, nutrienti e microrganismi. Agendo su proteine, grassi, zuccheri ed altre sostanze presenti negli alimenti, i microrganismi ne modificano le caratteristiche, l'aspetto e il sapore, facendone decadere le qualità.

Anche durante le varie fasi di lavorazione, l'alimento è soggetto a contaminazioni con batteri, alcuni dei quali possono essere patogeni. La presenza anche solo di poche unità di batteri patogeni in un alimento provoca le cosiddette malattie a trasmissione alimentare (MTA), per esempio il tifo in presenza di *Salmonella Typhi* in un uovo apparentemente sano, mentre la crescita di grandi quantità di batteri non patogeni (carica batterica totale, mesofila), altera il prodotto in modo irreversibile per la degradazione dei nutrienti e l'immissione di endotossine.



Sicurezza alimentare e salute dei consumatori

PER la sicurezza alimentare e a tutela della salute dei consumatori, la normativa distingue due principali categorie di microrganismi: patogeni e alterativi.

I primi, per le conseguenze che possono causare alla salute, sono strettamente normati al fine di stabilire con chiarezza se un alimento è sicuro o meno (shigellosi, campilobatteriosi, salmonellosi, botulismo, listeriosi...). L'infezione è generalmente trasmessa da animali quali vitelli, galline e maiali malati, all'uomo, tramite il consumo di uova, latte e carni "apparentemente salubri" e la cui presenza batterica è rilevabile solo da analisi di laboratorio microbiologiche. Trattamenti termici e condizioni di conservazione a temperature di refrigerazione o surgelazione, riducono il rischio biologico nell'assunzione di questi alimenti.

Ogni prodotto destinato all'alimentazione umana deve quindi sottostare a limiti stringenti. L'osservanza delle normative imposte non ammette deroghe per gli attori economici del settore alimentare.

Un approccio diverso, invece, riguarda i microrganismi non patogeni, i quali non hanno un limite definito per legge e talvolta non hanno un *range* massimo da rispettare, non presentando un rischio per la salute umana.

Ciò nonostante, i microrganismi non patogeni presentano un rischio di alterazione dell'alimento che può influire sull'accettabilità da parte del consumatore. L'azione dei microrganismi alterativi determina, in funzione delle caratteristiche intrinseche del prodotto e dall'entità della carica microbica, un decadimento qualitativo prematuro che non consente il rispetto della *shelf-life* dichiarata. L'esempio più noto è il latte "andato a male". Qui non sono presenti germi patogeni, ma "normale" mesofila che rende inaccettabile il prodotto.

Ogni alimento, dunque, presenta una carica microbica iniziale e i cereali non fanno eccezione. Sebbene naturalmente presentano una bassa umidità (10-15%) e attività dell'acqua (0,5-0,7 a_w), sono comunque suscettibili ai cambiamenti causati da questi microrganismi.



L'abbattimento della carica batterica nei cereali, legumi e semi oleosi

IL

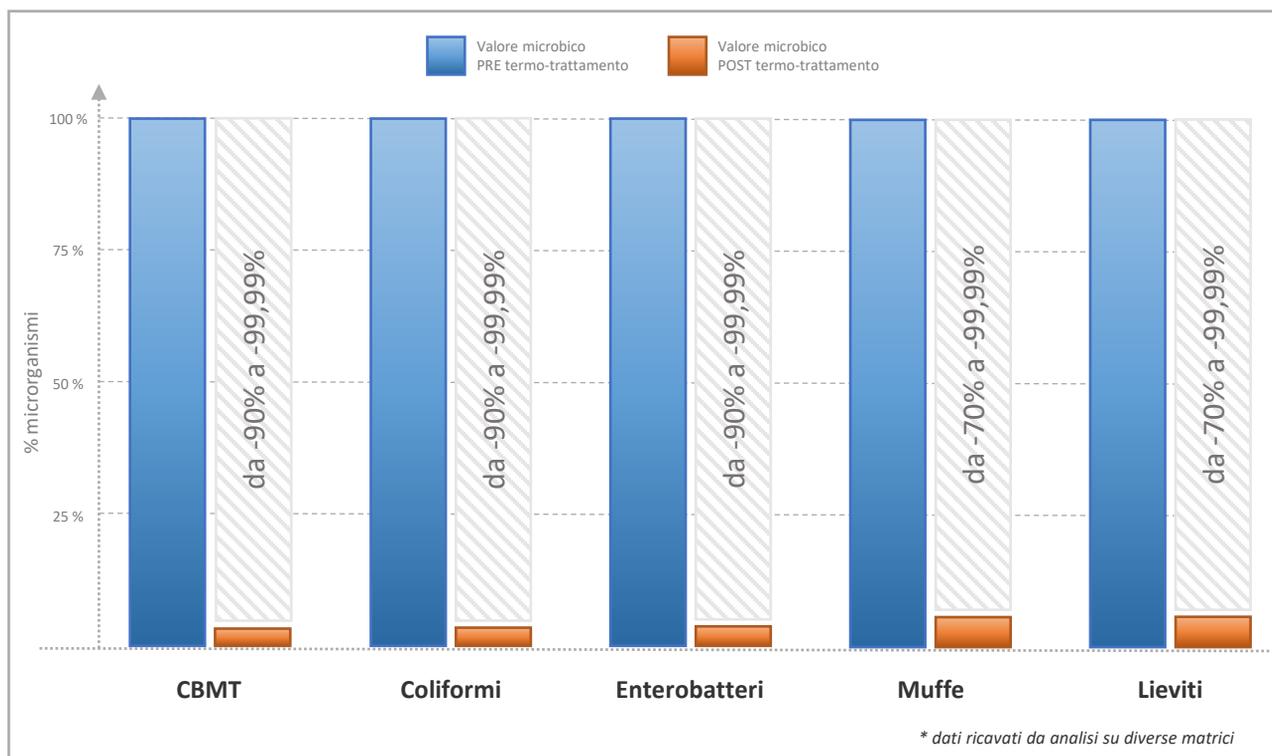
tema della carica batterica rappresenta una tra le componenti più problematiche nella lavorazione di cereali, legumi e semi oleosi, in particolar modo se integrali.

L'elevata carica batterica nella materia prima e nel semilavorato si ripercuote sia in una diminuzione della qualità, sia della palatabilità del prodotto finale, sia nella riduzione della *shelf-life*, per la generazione di *off flavour*, fenomeni ossidativi, proliferazioni batteriche e fungine.

Nel settore cerealicolo si ricorre quindi a processi di termo-trattamento per inattivare la carica batterica naturalmente presente nelle materie prime. I processi più avanzati, oltre ad avere un effetto battericida, inattivano la carica enzimatica. Riducendo l'attività dell'acqua (fino a 0,3 a_w) e l'umidità (fino a 6%), si crea un ambiente non favorevole alla moltiplicazione microbica, migliorando la stabilità del prodotto nel tempo. Se posta la dovuta attenzione in ogni fase di lavorazione, i termo-trattamenti che attuano al meglio l'applicazione del calore, e poi ottimizzano la velocità di raffreddamento successiva, permettono anche l'eliminazione dell'uso di additivi chimici per la conservazione.

I tempi e le temperature dei trattamenti termici devono essere studiati, testati e monitorati in modo specifico prodotto per prodotto. Considerando la carica microbica di partenza presente nei semi è possibile regolare l'intensità del trattamento determinando ottimi risultati nell'abbattimento microbico. La carica batterica finale presente nel semilavorato varia quindi a seconda dell'intensità del trattamento, ma anche dalla carica iniziale presente nella materia prima.

Modulando tempo e temperatura si può arrivare ad avere un abbattimento microbiologico da 2 a 6 logaritmi, lasciando inalterato l'aspetto visivo del seme (*vedi grafico*).



Le materie prime così processate risultano stabili sia microbiologicamente sia enzimaticamente. Tempi e temperature dei trattamenti termici sono specifici da prodotto a prodotto perché alcuni semi sono molto resistenti al calore, altri imbruniscono subito. Comunque, temperature molto alte sono sempre sconsigliate per evitare la formazione di acrilamide e altri composti tossici degradativi.

È dunque molto importante per le industrie di trasformazione poter utilizzare materie prime e semilavorati con basse cariche batteriche. Partendo da ingredienti di qualità, si ha un impatto positivo sul prodotto finale destinato al consumatore. Si accresce la percezione di qualità del *brand* sul mercato e, aspetto essenziale, si riducono le procedure di eventuali richiami di prodotti dallo scaffale.

Il laboratorio di microbiologia

IL laboratorio di microbiologia è l'ente chiamato a sovrintendere e a validare i processi industriali di abbattimento della carica batterica. La sua importanza è assoluta. Determina la presenza o l'assenza di eventuali specie patogene e l'entità delle enterobatteriacee e della mesofila nella materia prima e poi nel semilavorato. Dal punto di vista sanitario non è accettabile alcun germe patogeno negli alimenti.



Al contempo massima attenzione è rivolta alla famiglia delle enterobatteriacee, che avendo il loro habitat naturale nell'intestino dell'uomo e di vari animali, è indice di contaminazione fecale.

Purtroppo, il terreno selettivo ufficiale per la determinazione delle enterobatteriacee usato dai laboratori accreditati, non ha un'azione selettiva al 100%, pertanto possono crescere molte altre specie batteriche, non distinguibili nemmeno dalla successiva prova fermentativa del glucosio e negativa all'ossidasi. Non si tratta quindi di un "errore" attribuibile ai vari laboratori per incuria o imperizia, ma di un limite intrinseco dell'analisi, pur se il metodo è internazionalmente accettato.

L'emergente tema della riclassificazione delle enterobatteriacee

LO sviluppo imperioso della ricerca molecolare, cioè genetica, sta portando a forti cambiamenti nella classificazione dei batteri, prima effettuata solo tramite forma, colorazione, presenza di certi antigeni e alcune attività metaboliche come ad esempio la crescita in un terreno con bile.

Prendiamo ad esempio la *Listeria*, quasi la metà di *Listeria spp.* sta cambiando famiglia e, restando nelle enterobatteriacee, la *Pantoea agglomerans*, una comune enterobatteriacee, è oggi classificata nella famiglia delle *erwiniaceae* (fonte: NCBI, UniProt). Ciò rende evidenti le importanti ricadute nella pratica quotidiana.

In altri cambiamenti tassonomici, invece, come il passaggio da *Escherichia hermannii* ad *Atlantibacter hermannii*, il cambio di nome e di genere non ha comportato il cambio di famiglia, quindi le conseguenze pratiche sono pressoché ininfluenti.

Ora, per determinare la specie batterica che cresce nel terreno delle enterobatteriacee, cioè per capire se è veramente una enterobatteriacee, è necessario eseguire un test di conferma come la PCR o il MALDI-ToF.



PCR | MALDI-ToF

LA

precisa determinazione della specie batterica coinvolta (se si hanno dubbi in merito), si esegue tramite PCR o MALDI-ToF, partendo da una o più colonie cresciute nella piastra con terreno selettivo.

La **PCR** si basa sull'amplificazione di una porzione di DNA specifica per una data specie batterica (*Polymerase Chain Reaction*). È la tecnica migliore, ma costosa e relativamente lunga.

Il **MALDI-ToF** (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time of Flight mass spectrometry*) è una tecnica di spettrometria di massa più economica e veloce, con una precisione non dissimile dalla PCR, anche se leggermente inferiore.

In questo ambito, la montante ricerca scientifica sulla tassonomia microbiologica, può giocare brutti scherzi, in quanto la maggior parte delle banche dati microbiologiche per la PCR ed il MALDI-ToF non sono aggiornate, per cui la specie batterica identificata può essere associata alla famiglia sbagliata. Per la verità ciò accade con una certa frequenza. È quindi necessario che la R&S dell'azienda che richiede queste analisi di riferimento, valuti personalmente nelle più accreditate banche dati mondiali, l'effettiva collocazione tassonomica del battere identificato dal laboratorio. I siti ufficiali di **NBCI** e **UniProt** possono rendere semplice questa ricerca.



Conclusioni

SE

è vero che la contaminazione microbiologica di cereali e legumi è meno problematica di quella del latte o del pesce, ciò nonostante, presenta aspetti del tutto peculiari, in quanto la materia prima può provenire anche da continenti diversi, ognuno dei quali con mille caratteristiche microbiologiche naturali, o di contaminazione umana, diverse del terreno agricolo. È quindi sufficiente un semplice cambio d'origine della materia prima, anche restando nella stessa nazione, per ritrovare specie batteriche estremamente diverse, alcune delle quali possono interferire nelle determinazioni di laboratorio. Per non parlare di alcuni paesi immensamente estesi e con una scarsa attenzione all'ambiente, dove il controllo del terreno può presentare aspetti preoccupanti.

Per rendersi conto dell'estensione del problema tassonomico e della difficoltà di analisi, basti pensare che un uomo sano presenta diverse migliaia di specie batteriche nel suo corpo, e che si stima che nel mondo esistano qualcosa come 1000 miliardi di specie batteriche! Mentre quelle patogene per l'uomo sono una quarantina.

Le richieste di semilavorati che presentino cariche batteriche entro certi limiti, devono orientarsi verso processi industriali che, con tecnologie specificatamente modulate per matrice alimentare, siano atti all'abbattimento della CBMT e delle enterobatteriacee, attivando procedure di controllo attente alla valutazione e validazione dei risultati delle analisi da laboratorio: una analisi non conforme per le enterobatteriacee, a seguito di indagini **PCR** o **MALDI-ToF** può dimostrarsi un falso positivo.

Per le industrie attente al tema dell'abbattimento della carica batterica, i migliori risultati sono dunque ottenibili da una corretta applicazione dei termo-trattamenti validati da analisi di laboratorio.